

различных видах стресса. // Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности. Минск: "Полибиг", 1999.- С. 137 -138.

2. Беляева Л.Е., Цвирко И.А. К механизму нарушений тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда после сочетанного воздействия стресса и кровопотери. // Теоретические и практические вопросы медицины и фармации.- Витебск: ВГМУ, 2000. – С. 36-39.

3. Божко А.П., Солодков А.П. Влияние комбинированного воздействия иммобилизации и холода на коронарное кровообращение и сократительную функцию изолированного сердца. // Вести Академии Наук Беларуси.-1993.-N4.-С. 66-71.

4. Новикова Е.Б. Авторегуляция в коронарной системе. // Физиолог. ж-л СССР.- 1972.- Т.58, N 1.- С. 61-71.

5. Шебеко В.И. Эндотелий и система комплемента. Витебск: ВГМУ, 1999.- 134 с.

6. Wiggers, C.J. The Physiology of Shock. // Common Wealth Fund:- New York, 1950.- P. 324.

ВЛИЯНИЕ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ЭНДОГЕННОГО ЭНДОТЕЛИНА-1 НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И СОСУДИСТЫЙ ТОНУС У КРЫС

¹Графов М.А., ²Гаврилова С.А., ³Рубина А.Ю., ³Масенко В.П., ²Медведева Н.А.

¹*Факультет Фундаментальной медицины и* ²*Биологический факультет,*
Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, ³*Российский*
Кардиологический Научно-производственный Комплекс МЗ РФ; Москва

Введение

Эндотелин-1 (ЕТ-1) принимает непосредственное участие в регуляции сосудистого тонуса. Кроме прямого сосудосуживающего воздействия на гладкие мышцы и опосредуемого эндотелием расширения сосудов, этот пептид модулирует нейрогуморальную регуляцию кровеносных сосудов, контролирует работу сердца и чувствительность сосудов, играет роль в определении вязкости крови (обзоры - 1, 2). Длительные эффекты ЕТ-1 включают в себя стимуляцию пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, ангиогенез (там же). В настоящий момент большинство сведений по этому направлению получено в экспериментах с искусственным увеличением уровня ЕТ-1 (вплоть до его фармакологических концентраций), или - более того - при патофизиологических условиях. В противовес этому, физиологическая роль эндогенного пептида остается малоизученной (3). С одной стороны,

это можно объяснить методологическими проблемами в получении животных с пониженным содержанием ЕТ-1. Так гомозиготные ЕТ-1^{-/-} мыши погибают вскоре после рождения, а у гетерозиготных ЕТ-1^{+/-} животных уровень ЕТ-1 в крови снижен только на 30-40% (4). С другой стороны, изучение роли эндогенного пептида затруднено из-за необычно низкого по сравнению с другими регуляторами уровня ЕТ-1 в крови и незначительной эффективностью антагонистов эндотелиновых рецепторов у нормотензивных животных (5, 6). Таким образом, изучение роли эндогенного ЕТ-1 в регуляции гемодинамики в физиологических условиях по-видимому требует других подходов. В представляемой работе мы исследовали влияние активной иммунизации нормотензивных крыс против эндогенного ЕТ-1 на уровень пептида в крови, показатели артериального давления и частоты сердечных сокращений, а также реактивность изолированных сосудов.

Материалы и методы исследований

В работе использовали самцов крыс линии Wistar весом 220-260 г (возраст 10-11 недель). Иммунизацию проводили согласно модификации ранее использованных подходов. Для этого крысам вводили конъюгат ЕТ-1 и гемоцианина. Конъюгат (анти-ЕТ-1 группа, n=6), только гемоцианин (контроль, n=5) или растворитель (интактные животные, n=6) вводили подкожно (800 мг белка/кг в 100 мкл 0.9% раствора NaCl и 100 мкл полного адьюванта Фрейда) пять раз в течение исследования с интервалом 2-4 недели. В конце периода иммунизации артериальное давление исследовали бескровным способом. Затем у наркотизированных эфиром животных из подключичной вены брали кровь на определение уровня ЕТ-1. После этого производили декапитацию животных, аорту и хвостовую артерию извлекали для *in vitro* изучения реактивности сосудов. Ответы колечек изолированной аорты (длина 3 мм) изучали в изометрических условиях с предварительным периодом стабилизации под нагрузкой 1.2 г. Сегменты хвостовой артерии (длина 6 мм) перфузировали в условиях постоянного протока (2 мл/мин). Во всех экспериментах использовали модифицированный раствор Кребса-Хенселяйта в стандартных условиях (37 °C, pH 7.4, аэрация 95% O₂ и 5% CO₂). Все данные представлены как mean±SEM, для статистической оценки результатов использовали *t*-тест Стьюдента, U-тест Манна-Уитни, ANOVA для множественных сравнений.

Результаты и их обсуждение

Титры антител у крыс, иммунизированных против ЕТ-1, согласно иммуноферментному анализу составляли около 1:3500. Иммунизация против ЕТ-1 привела к уменьшению уровня пептида в плазме крови по сравнению с крысами, получавшими только гемоцианин (1.9±0.5 фмол/мл против 4.9±1.8 фмол/мл, *p*<0.05). Интактные животные имели

промежуточное значение (3.4 ± 1.2 фмол/мл). Эти группы характеризовались следующими значениями артериального давления и частоты сердечных сокращений: 119.8 ± 5.9 мм рт ст и 327.5 ± 13.3 уд/мин, 111.8 ± 2.2 мм рт ст и 326.6 ± 21.6 уд/мин, 110.3 ± 3.1 мм рт ст и 332.5 ± 16.5 уд/мин, соответственно (все различия недостоверны). В опытах на изолированных сосудах и для хвостовой артерии, и для колец аорты у крыс группы анти-ЕТ-1 была показана пониженная чувствительность к ЕТ-1. Величина EC_{50} (50% эффективная концентрация) для колец аорты была увеличена до 6.57 ± 1.80 нМ по сравнению с 2.95 ± 0.66 нМ у контрольных крыс ($p < 0.05$), в то время как максимальный ответ практически не изменялся. В опытах на хвостовой артерии обнаружены повышенный порог проявления сосудосуживающего действия ЕТ-1 и снижение ответа на максимальные концентрации ЕТ-1 в сравнении с контролем (увеличение перфузионного давления составило 5.2 ± 3.1 мм рт ст и 13.6 ± 7.0 мм рт ст, соответственно, $p < 0.05$). В противовес изменениям сосудосуживающих ответов, эндотелий-зависимое расслабление колец аорты в ответ на ацетилхолин (Ацх) достоверно не изменялось ($EC_{50} = 0.20 \pm 0.06$ мкМ по сравнению с 0.35 ± 0.09 мкМ в контрольной группе). В опытах на хвостовой артерии у иммунизированных крыс выявлено уменьшение реактивности в ответ на Ацх по сравнению с крысами, получавшими гемоцианин.

Таким образом, в представленной работе показано, что активная иммунизация комплексом гемоцианин-ЕТ-1 может приводить к существенному снижению уровня эндогенного пептида в плазме. При этом относительно увеличение АД, наблюдаемое в этих опытах, хорошо согласуется с данными, полученными на ЕТ-1-дефицитных гетерозиготных мышах (6). Интересно отметить, что иммунизация сопровождалась также уменьшением чувствительности сосудов к экзогенному ЕТ-1. В опытах *in vitro* такой эффект достигается инкубацией тканей в присутствии, наоборот, высоких концентраций ЕТ-1 и обеспечивается, по-видимому, интернализацией комплекса рецептор-лиганд. Механизм запуска данного эффекта в ответ на снижение уровня ЕТ-1 нуждается в дальнейшем изучении. Вероятно, изменение сосудистых ответов на Ацх и норадреналин (данные не приведены) указывает на значительные сдвиги в системе внутриклеточного проведения сигнала. Можно лишь добавить, что у крыс линии August, которые также имеют пониженный уровень ЕТ-1 в крови, изолированные сосуды имеют и сниженный уровень ответов на ЕТ-1.

Таким образом, долговременное уменьшение уровня циркулирующего ЕТ-1 у половозрелых животных сопровождается незначительным увеличением артериального давления, а также сдвигами реактивности изолированных сосудов. Эндогенный эндотелин-1 играет важную роль в регуляции тонуса сосудов не только при

патофизиологических условиях, как это было описано ранее, но и у нормотензивных животных.

Данная работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований

ЛИТЕРАТУРА

1. Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology // *Pharmacol Rev* - 1994. 46:325-415.
2. Haynes WG, Webb DJ. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease // *J Hypertens* - 1998. 16:1081-1098.
3. Ong ACM. Surprising new roles for endothelins // *BMJ* - 1996. 312:195-196.
4. Kurihara Y, Kurihara H, Suzuki H, Kodama T, Maemura K, Nagai R, Oda H, et al. Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1 // *Nature* - 1994. 368:703-710.
5. Battistini B, D'Orleans-Juste P, Sirois P. Endothelins: circulating plasma levels and presence in other biologic fluids // *Lab Invest* - 1993. 68:600-628.
6. Teerlink JR, Carteaux JP, Sprecher U, Loffler BM, Clozel M, Clozel JP. Role of endogenous endothelin in normal hemodynamic status of anesthetized dogs // *Am J Physiol* - 1995. 268:H432-440.

ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ ЭНДОТЕЛИНА-1 В ОТВЕТАХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ НА СТРЕСС

¹Графов М.А., ²Давыдова М.П., ³Зарецкий Д.В., ³Зарецкая М.В., ²Медведева Н.А.

¹Факультет Фундаментальной медицины и ²Биологический факультет, Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, ³Российский Кардиологический Научно-производственный Комплекс МЗ РФ, Москва

Введение

Эндотелин (ЕТ-1) - эндогенный пептид, который продуцируется эндотелием сосудов и является универсальным регулятором большинства важнейших функций организма (кровообращения, нейромедиаторных и эндокринных процессов и т.д.). Однако в настоящее время остается практически неизученным его физиологическое (в противовес интенсивно изучаемому патологическому) значение в организме. Между тем, многие адаптивные реакции организма сопряжены с увеличением уровня ЕТ-1 в крови (1-2). Наряду с этим, чувствительность сердечно-сосудистой